**《规模化场牛结节性皮肤病防控与净化技术规范》编制说明**

注：提交时黑色和蓝色字均不可删减。没有的应写“无”。

# 一、工作简况

## （一）任务来源

牛结节性皮肤病（Lumpy skin disease，LSD）简称牛结节病，是由痘病毒科（Poxviridae）山羊痘病毒属（Capripoxvirus，CaPV）的牛结节性皮肤病病毒（Lumpy skin disease virus，LSDV）引起的，以患牛发热、皮肤、黏膜、器官表面广泛性结节、淋巴结肿大、皮肤水肿为特征的传染病。世界动物卫生组织（OIE）列为必须通报的疫病。该病于1929年在赞比亚首次发生，之后主要在撒哈拉和马达加斯加等非洲国家和地区呈地方流行，并于1989年和2006年在以色列发生，之后不断蔓延至伊朗、巴基斯坦、沙特阿拉伯等国家。2015年先后在希腊和俄罗斯暴发，并在中亚和欧洲流行传播。2019年8月12确诊传入我国新疆伊犁地区，2020年6月后确诊在福建、江西、广东、安徽、浙江、广西等近20个省区流行，对我国养牛业特别是奶牛业造成巨大危害和威胁。

自LSD在我国新疆伊犁边境地区暴发以来，根据农业农村部《关于做好牛结节性皮肤病防控工作的紧急通知》（农牧发〔2019〕26号）和农业农村部办公厅《关于做好牛结节性皮肤病排查处置工作的紧急通知》（农牧发〔2020〕58号）的要求，我所承担了牛结节性皮肤病疫情调查、确诊和处置，疫苗与诊断技术以及虫媒调查与防治等研究任务，系统开展了流行病学调查和溯源工作，掌握了疫情发生范围、流行特征和发展趋势，基本搞清了我国内陆沿海地区牛结节性皮肤病发生和流行的原因。在国内首次唯一获得了LSDV实验资质（CNAS BL0098）和活动资格（农牧发[2019] 32号）。此外，实验室科技人员2020年7月-8月、2021年1月-2月先后2次参加FAO/OIE国际组织的LSD防控技术培训，并获得相应技术证书。另外，主持承担了国家“十三五”重点研发项目课题“牛羊重要病原体分子检测新技术研究”（2016YFD0500907）和国家动物疫病监测与防治项目“牛结节性皮肤病疫情监测与防治”（125161031），在全国范围内开展LSD流行病学调查、溯源和预警以及应急防治控制工作，先后制定了甘肃省地方标准《牛结节性皮肤病血清学诊断技术》（DB62/T 4634-2022）和《牛结节性皮肤病防控技术规范》（DB62/T 4633-2022），现已通过会议审定发布，即将于10月20日实施。所有这些为该技术规范的制定奠定了坚实的技术、产品和人才储备。

牛结节病是世界动物卫生组织（WOAH/OIE）规定的须通报的疫病，也是国家质量监督检验检疫总局、农业部联合公告《中华人民共和国进境动物检疫疫病名录》（2020第256号）中的一类传染病。农业农村部暂对牛结节病按二类动物疫病进行管理。随着新修订的《中华人民共和国动物防疫法》（中华人民共和国主席令[2021]第六十九号）的发布与实施，疫病控制与净化工作成为目前和将来重大动物疫病特别是外来新发病防控的核心工作和主要任务，为规范牛结节病防控工作，尽快控制和净化牛结节病这一外来新发病，根据全国动物卫生标准化技术委员会文件《关于征集2021年度动物卫生标准项目立项的通知》（动卫标[2021]3号）和农业农村部《牛结节性皮肤病防治技术规范》（农牧发[2020]30号）的规定,特提出了制定“规模化牛场结节性皮肤病防控与净化技术规范”，以具体指导和规范基层规模化牛场该病的防疫工作。

## （二）起草单位和主要起草人及其所做的工作

## 起草单位：中国农业科学院兰州兽医研究所。

**主要起草人**：景志忠，陈国华，房永祥，何小兵，李维克，贾怀杰，娄忠子，等。

**参与人分工如下**：

景志忠：中国农业科学院兰州兽医研究所，项目主持人及主要起草人。全面组织《规模化牛场结节性皮肤病防控与净化技术规范》2021版标准的制定，确定制定标准的选题、主要内容和基本框架，组织对制定技术规范的前期立项的调研、起草、论证和报批工作，起草《规模牛场结节性皮肤病防控与净化技术规范》编制说明”等。

陈国华：中国农业科学院兰州兽医研究所，主要起草人之一。协助完成牛结节性皮肤病诊断监测的血清学检测方法的选择以及内容的起草和相关试验的验证工作。

房永祥：中国农业科学院兰州兽医研究所，主要起草人之一。协助完成牛结节性皮肤病诊断监测的分子生物学病原核酸检测方法的选择以及内容的起草和相关试验的验证工作。

何小兵：中国农业科学院兰州兽医研究所，主要起草人之一。协助完成牛结节性皮肤病流行病学调查方法的选择以及内容的起草和相关试验的验证工作。

李维克：中国农业科学院兰州兽医研究所，主要起草人之一。协助完成牛结节性皮肤病控制净化标准的选择以及内容的起草和相关试验的验证工作。

贾怀杰：中国农业科学院兰州兽医研究所，主要起草人之一。协助完成牛结节性皮肤病防控技术方法的选择以及内容的起草和相关试验的验证工作。

娄忠子：中国农业科学院兰州兽医研究所，主要起草人之一。协助完成牛结节性皮肤病防控生物安全管理方法的选择以及内容的起草和相关试验的验证工作。

## （三）起草阶段的主要工作

**1.标准讨论稿起草情况**

本标准征求意见稿重点参考的标准及相关法律法规和文献资料内容如下：参考OIE《陆生动物法典》（2019）和OIE《陆生动物诊断试验和疫苗手册》（2021）中相关的牛结节性皮肤病诊断、防控与净化方面的描述，转化了OIE手册和OIE法典以及国家标准《牛结节性皮肤病诊断技术》（GB/T 39602-2020）和农业农村部文件(农牧发[2020]30号)《牛结节性皮肤病防治技术规范》中有关临床诊断以及实验室血清学和病原学检测方法；在养殖场兽医卫生管理、消毒技术和废弃物处理等方面，转化和参考了国家标准《奶牛场卫生规范》（GB/T 16568）、《畜禽产品消毒规范》（GB/T 16569）和《畜禽粪便无害化处理技术规范》（GB 16548）以及农业行业标准《畜禽养殖场消毒技术》（NY/T 3075）、《牛羊饲养场兽医卫生规范》（NY/T 3467），在动物运输、隔离和检疫管理方面，转化和参考了国家标准《种畜禽调运检疫技术规范》（GB 16567）以及行业标准《动物隔离场所动物卫生规范》（NY/T 2842）、《动物及动物产品运输兽医卫生规范》（NY/T 2843）和《兽医诊断样品采集、保存和运输技术规范》（NY/T 541），在养殖场生物安全管理方面，转化和参考了农业行业标准《畜禽场场区设计技术规范》（NY/T 682）、《畜禽场环境污染控制技术规范》（NY/T 1169）和《畜禽场环境质量及卫生控制规范》（NY/T 1167），在动物产品生产质量技术管理方面，转化和参考了农业行业标准《畜禽养殖场质量管理体系建设通则》（NY/T 1569）、《动物免疫接种技术规范》（NY/T 1952）、《无公害农产品 生产质量安全控制技术规范 第1部分：通则》（NY/T 2798.1）和《无公害农产品 生产质量安全控制技术规范 第7部分：家畜》（NY/T 2798.7）以及国家标准《病害动物和病害动物产品生物安全处理规程》（GB/T 36195），还参考了《实验室生物安全通用要求（GB19489-2008）》中对生物安全的相应要求。

本标准在制定过程中，还吸纳了近年来国际上以及我国在牛结节性皮肤病防控技术方面的最新研究成果，以达到系统全面科学地制定该标准，并适合我国基层规模化牛场牛结节病防控与净化，最终恢复我国无LSD国地位。

上述工作完成后，标准起草工作组开始本标准的起草工作，于2020年12月完成了标准的初稿，2021年4月形成了工作讨论稿“规模化牛场结节性皮肤病防控技术规范”。

**2.标准立项情况**

在“规模化牛场结节性皮肤病防控技术规范”工作讨论稿形成后，于2021年12月报全国动物卫生标准化技术委员会申请立项，并于2022年4月29日获得农业农村部农产品质量安全监管司的批准立项（NYB-22028），并于2022年5月31日前完成实施方案的制定和提交。

**3.标准广泛征求意见情况**

在该标准立项后，标准负责人再对立项过程中专家的建议和意见进行吸纳和补充完善，形成了征求意见稿，并起草了该标准的编制说明，在全国范围内广泛选择包括农业农村部畜牧兽医局、中国动物疫病预防控制中心、中国动物卫生与流行病学中心、西北农林科技大学、西南民族大学、甘肃省畜牧兽医局、甘肃省动物疫病预防控制中心、青海省动物疫病预防控制中心、甘肃农业大学、西北民族大学以及内蒙古伊利实业集团股份有限公司等产学研和管理部门单位专家的意见。共收到33个单位35位专家的意见，其中回函并有建议或意见的专家20位，征集到意见 130 条，其中同意采纳 105 条，占 80.77 %；未采纳 12 条，占 9.23%； 13 条部分采纳，占 10.00 %，对未采纳和部分采纳者均在备注栏中均做了说明（见征求意见汇总表）。

# 二、标准编制原则和确定标准主要内容的依据

## （一）标准的编写原则

主要阐述标准制定或修订过程遵循的基本原则。

1. 响应和实施新修订的国家《动物防疫法》，加大动物疫病特别是外来新发病的防控应对能力，提升牛结节性皮肤病的防控水平和成效，保障养牛业的健康发展；

2. 坚持科技自立自强、创新驱动和服务产业发展为导向，加强动物重大疫病的诊断、防控和净化，建立无疫病场/区/国家，积极与国际接轨；

3. 加强全产业链的疫病防控和生物安全控制措施，强化牛结节病防控和净化的科学性、规范性、整体性和可操作性；

4. 按照牛结节性皮肤病的流行病学规律、病原致病与免疫特点以及现有的防控技术措施，按照传染病流行的三个环节（传染源、传播途径和易感动物），主要采取检疫监测、扑杀免疫、消毒灭源等手段达到预防、控制和净化目标；

5. 本标准制定的内容，已有标准和规范的，起草时原则上采纳原标准和规范的内容，本标准涉及的内容暂无标准和规范的，通过查阅《中华人民共和国兽药典》、农业农村部公告、公开的文献，汲取其有用信息，并通过实验室系统试验和疫病防控实践，进一步明确标准的关键措施、技术参数和判定标准。

## （二）提出本标准主要内容的依据

主要内容包括技术指标、参数、公式、性能要求、试验方法、检验规则等。依据包括试验和统计数据。尤其注意本条不要写成任务来源。

本标准主要依据OIE《Terrestrial Animal Health Code》（2019）Chapter 11.9 Infection with lumpy skin disease virus以及我国农业农村部文件《牛结节性皮肤病防治技术规范》(农牧发[2020]30号) 中的相关内容，按照牛结节病控制净化技术要求、生物安全管理要求、疫病监测检测、控制净化标准和综合判定等主要技术环节进行规定，以规范该病的防控与净化策略和措施。

在疫病控制净化技术要求中，按国家发布的《牛结节性皮肤病防治技术规范》 (农牧发[2020]30号)、《无规定疫病区标准：第一部分 通则》（GB/T 22330.1）、GB 16548、GB 16567、GB/T 16568 、GB/T 16569和GB/T 36195等国家和行业标准执行。主要按照传染病特别是外来新发病“早、快、严、小”应急处置原则，围绕着牛结节病流行的三个基本环节预防、控制和净化工作，针对该病危害程度与影响按动物一类病的突发处置原则，做到早发现、早报告、早确诊和早处置，将影响和损失降到最低，这里进一步强调了监测、诊断和报告的重要性。针对临床上无症状感染、亚临床感染和康复后带毒以及潜伏期长等问题，确定采用临床诊断、病原学诊断和血清学诊断相结合的综合诊断策略。针对牛结节性皮肤病病毒（LSDV）可通过媒介生物如吸血昆虫蚊、蝇以及硬蜱传播的特点，在疫区、威胁区范围以及传染源确定时，充分考虑媒介生物飞行活动能力以及生物学传播能力，确定疫点直径50Km的范围为疫区监测范围（有文献建议80Km）。由于我国及国际上目前仅有LSDV同源的和异源（GTPV、SSPV）的弱毒活疫苗用于免疫接种防控，已有多个报道证实发生了疫苗样疾病或疫苗株与自然流行毒重组病毒的暴发流行，针对活病毒疫苗株与自然流行毒重组出现新的重组病毒的问题，在该病防控净化实践中严格要求扑杀无害化处理发病牛，禁止给发病牛或无症状感染接种活疫苗，加强疫情监测以及疫苗免疫和自然感染的鉴别诊断。针对LSDV可通过哺乳、自然交配和人工授精传播该病问题，提出了禁止病牛哺乳、配种以及规范人工授精的行为等。强调了医源性特别是免疫接种疫苗或药物的针头传播LSDV的问题。

在规模化牛场生物安全管理要求中，由于LSDV耐受力强、传播方式多样和易感动物种类多问题，该标准围绕着牛的各种生产方式（放牧、舍饲、半饲半牧）和各个饲养环节（产奶、育肥、繁殖、育成），在牛场选址、布局、动物舍设计建设与运行以及动物的引种运输、饲养管理、出售交易等生产过程中，新引入和增加生物安全管理理念和措施，在饲养单位资质条件管理、人员管理、结构布局、栏舍设置、卫生环保、无害化处理、消毒管理、生产管理、防疫管理、引种管理和净化监测管理等11个方面进行了较为详细的规定，以规范整个生产过程的生物安全行为，并在日常管理工作中加以实施。

在牛结节病疫情监测检测中，对采样对象、样品种类以及采样方式与数量进行较为明确的规定，实现系统监测该病的流行情况，这里特别强调了监测媒介生物携带病原和传播疫病的重要性和危险性。在诊断检测方法选择中，在临床诊断的基础上既考虑了病原学诊断方法，也考虑了血清学诊断方法；由于该类病病原是二类危险病原，在生物安全管理上须在生物安全安全三级实验室中开展相关活动，为适应基层牛场疫情监测和流行病学调查，除按国家诊断标准GB/T 39602执行外，还根据我国及国际发展趋势增加了牛结节病间接ELISA法或竞争ELISA法等进行LSDV抗体检测，解决了基层缺乏生物安全实验条件的限制。

在控制净化标准确定中，主要参照和转化了OIE《Terrestrial Animal Health Code》（2019）中的相关规定，并吸纳了《无规定疫病区标准：第一部分 通则》（GB/T 22330.1）中的术语、理念和相关内容，按照控制标准、净化标准和无疫标准三个大的层次，结合是否进行疫苗免疫接种进行了多层次不同情况的详细规定，并增加了现场疫病防控和生物安全日常管理的一些要求。

在综合判定中，仍然强调生物安全管理重要性，按照控制、净化和无疫区/牛场三类情况进行规定。

## （三）新旧标准对比（适用于修订标准的情况）

该标准为新制定，无新旧对比关系。

三、主要试验或验证的分析、综述报告，技术经济论证，预期的经济效果

**1. 我国牛结节性皮肤病病毒流行毒株的分离、基因组测序及病原学分析**

在全国范围内采集我国不同省区牛结节性皮肤病（LSD）病牛病料，原代/传代细胞培养，分离病毒，采用实时荧光定量PCR技术扩增鉴定关键基因，阳性样品病毒大量提取基因组DNA进行全基因组测序分析，分析不同流行毒株遗传演化关系，建立靶动物感染模型，测定新疆流行毒株的毒价。结果共分离鉴定新疆、福建、广东、广西、云南等地流行毒10余株，完成5株病毒的全基因组测序与分析，基因组均大于150kb以上，证实新疆毒株与福建毒株聚在一起，并与Nethling疫苗株和俄罗斯saratov-2017毒株遗传演化关系十分相近。用细胞毒感染小黄牛3头测定新疆毒株的毒价，采用Reed-Muench法计算的ID50为4.46/0.25ml（见下表）。另外，成功地复制了4株流行毒株的靶动物病例模型，其病原学特征待后详报（该研究部分内容属于保密范围，尚未公开的资料，仅为有限展示）。

**2. 病原学诊断检测技术**

建立普通PCR技术、荧光定量PCR技术以及鉴别山羊痘病毒属的GTPV、SHPV和LSDV三种病毒核酸的HRM扩增产物技术，分别对来自疫区、非疫区以及实验室人工感染的样品（血液、口鼻分泌物、奶样、痂皮组织等）进行大量检测，其特异性、敏感性和符合率均较高（病原学诊断检测以及流行病学调查和溯源结果暂不宜公开，待详报）。

**3. 血清学诊断检测技术**

3.1病毒中和试验

将实验室分离鉴定的新疆株LSDV稀释为200TCID50/ 50µL,并将6份实验室感染的血清按（1:2、1:4、1:8、1:16、1：32、1:64）稀释后，每个血清的滴度做4孔重复，观察9天。在第8天病变的细胞再无变化，6份血清都为阳性，抗体的效价都大于或等于1:8，第9天统计的结果见表1。

**表1 病毒中和检测抗体的滴度**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **血清稀释度**  **血清编号** | | **1:2** | **1:4** | **1:8** | **1:16** | **1：32** | **1:64** |
| **1** | 细胞病变（CPE）  所占孔数 | 0 | 0 | 1/3 | 2/4 | 3/4 | 3/4 |
| **2** | 0 | 0 | 2/4 | 2/4 | 3/4 | 4/4 |
| **3** | 0 | 0 | 1/3 | 2/4 | 3/4 | 3/4 |
| **4** | 0 | 0 | 1/3 | 2/4 | 3/4 | 3/4 |
| **5** | 0 | 0 | 1/3 | 2/4 | 3/4 | 4/4 |
| **6** | 0 | 0 | 0 | 2/4 | 3/4 | 3/4 |
| **+** | 0 | 0 | 0 | 0 | 2/4 | 2/4 |
| **-** | 4/4 | 4/4 | 4/4 | 4/4 | 4/4 | 4/4 |

**3.2牛结节性皮肤病ELISA检测方法**

3.1重组蛋白建立的间接ELISA和竞争ELISA方法检测能力的评价

用初步建立的A3重组蛋白间接ELISA、竞争ELISA方法与购买的法国ID公式的双抗原检测试剂盒对在P3实验室人工感染的30头牛，感染后的3d，6d，9d，12d，15d，18d，21d，28d，血清抗体消长水平进行检测，结果显示LSDV感染后，建立的间接ELISA、竞争ELISA方法最早能够在病毒感染的第9天检出，在感染后第9d间接法和竞争法检测分别为3.335%、6.67%的血清为阳性，而在感染后的第12d有分别为70%、80%的血清为阳性，在感染的18d之后二者100%为阳性；而与国外的试剂盒相比较，建立的间接ELISA和竞争ELISA方法敏感性更高，感染后阳性检测出时间可以提前3-6天，且检出率更高，结果见表2。

**表2 实验牛感染不同天数抗体阳性率**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 检测方法  及试剂盒 | 抗体阳性 | | | | | | | | |
| 0d | 3d | 6d | 9d | 12d | 15d | 18d | 21d | 28d |
| 牛结节性皮肤病间接ELISA | 0 | 0 | 0 | 3.37%  (1/30) | 70%  (21/30) | 96.67%  (29/30) | 100%  (30/30) | 100%  (30/30) | 100%  (30/30) |
| 牛结节性皮肤病竞争ELISA | 0 | 0 | 0 | 6.67%  (2/30) | 80%  (24/30) | 96.67%  (29/30) | 100%  (30/30) | 100%  (30/30) | 100%  (30/30) |
| Capripox Double Multi-species kit(ID公司) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 26.67%  (8/30) | 46.67%  (14/30) | 60%  (18/30) | 93.33%  (28/30) |

**3.2重组蛋白建立的间接ELISA和竞争ELISA方法检测的特异性及敏感性**

3.2.1利用建立的间接ELISA和竞争ELISA方法两种方法，检测自然感染阳性血清(14份)和试验室感染(58份)，牛阴性血清163份。自然感染阳性血清(14份)和试验室感染(58份)，间接ELISA方法检测的抗体阳性率为91.67%，竞争ELISA方法的检测抗体阳性率为95.83%；阴性血清163份，间接ELISA抗体阴性为155份，阴性符合率为95.1%，竞争ELISA抗体阴性为157份，阴性符合率为96.3%，结果见表3。与国外的试剂盒相比较，本标准中建立的血清学ELISA方法的检出率更高。

**表3 不同方法与法国ID试剂盒比较**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 试剂盒名称 | 检测血清来源 | 抗体阳性 | 阴性 |
| 牛结节性皮肤病  间接ELISA方法 | 自然感染及试验验感染血清72份,牛阴性血清163份 | 91.67% (66/72) | 95.1% (155/163) |
| 牛结节性皮肤病  竞争ELISA方法 | 95.83% (69/72) | 96.3% (157/163) |
| CapripoxDouble Multi-species kit  (国外ID公司生产) | 65.28% (47/72) | 100% (163/163) |

3.2.2利用建立的间接ELISA和竞争ELISA方法两种方法对口蹄疫（Foot-and-mouth disease virus，FMDV）阳性血清、牛病毒性腹泻病毒（Bovine viral diarrhea virus，BVDV）阳性血清、牛布鲁氏杆菌病阳性血清、牛蓝舌病血清检测，结果都无交叉反应。

**4. 山羊痘病毒弱毒株灭活疫苗免疫攻毒保护试验及其效果评价**

开展了LSDV新疆流行毒株、山羊痘弱毒株灭活疫苗以及山羊痘弱毒株疫苗免疫保护效果评价工作，均取得了良好的结果，其中5倍剂量（羊的接种剂量）的山羊痘弱毒株疫苗皮内免疫接种试验奶牛（5头），在免疫4个月后用LSDV新疆流行毒株体表皮肤内攻毒，其ID值与对照组的差值可达4.0以上，证明用山羊痘弱毒株疫苗免疫接种牛免疫保护作用良好，但仅在免疫后2-12天内在接种部位存在肿胀并随后消失等轻微的不良反应（LSDV新疆流行毒株的灭活疫苗的结果暂不宜公开，待详报）。

**5. 临床样品检测、验证与综合分析**

**（1）病原分子生物学检测**

对827份临床样品（抗凝血746份、痂皮组织25份、血清8份、牛奶2份、鼻拭子46份）、12份细胞培养物进行检测，结果显示：本研究建立的基于HRM的定量实时PCR法较OIE推荐的PCR灵敏度更高。进一步对HRM检测呈LSDV核酸阳性的样品，扩增其保守的GPCR，连接至T载体进行测序，结果发现扩增的GPCR基因与参考LSDV AF409137序列的GPCR基因完全一致，说明基于HRM的定量实时PCR检测结果准确、可靠。

**表4 临床样品检测结果**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 样品类型 | 疑似病原 | HRM方法 | | | OIE推荐的PCR方法 | | |
| 阳性 | 阴性 | 阳性率% | 阳性 | 阴性 | 阳性率% |
| 抗凝血 | LSDV | 6 | 740 | 0.80 | 2 | 744 | 0.27 |
| 痂皮 | LSDV | 20 | 5 | 80 | 16 | 9 | 64 |
| 血清 | LSDV | 8 | 0 | 100 | 8 | 0 | 100 |
| 牛奶 | LSDV | 2 | 0 | 100 | 2 | 0 | 100 |
| 鼻拭子 | LSDV | 18 | 28 | 39.1 | 12 | 34 | 26.1 |
| 细胞培养物 | SPPV | 6 | 0 | 100 |  |  |  |
| 细胞培养物 | GTPV | 6 | 0 | 100 |  |  |  |

**（2）血清学临床样本的检测**

利用建立的方法对2019.5月—2020年12月份采集的不同地方的牛血清进行了检测，检测结果如下表5:

**表5 牛结节性皮肤病部分临床样品的检测**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 样品来源 | 阳性 | 阴性 |  |
| 新疆 | 5 | 398 | 403 |
| 福建 | 24 | 8 | 32 |
| 内蒙 | 10 | 73 | 83 |
| 青海 | 4 | 96 | 100 |
| 甘肃 | 1 | 92 | 93 |
| 河北 | 4 | 0 | 4 |

# 

# **（3） 新疆、福建等省区疑似LSD的确诊、流行病学调查与溯源**

2019年8月-2020年12月间，重点对新疆、福建、广西、河北、内蒙古、河南等省区的疑似LSD病例利用我们建立的分子生物学、血清学诊断检测技术进行了实验室检测，以及现场的流行病学调查，确诊了相应病例疫情，分析了跨境、跨省传播可能性及其源头，在4株地方流行毒株病毒全基因组测序分析的基础上，基本阐明了我国LSD的主要流行毒株、来源及其危害性，揭示了流行在福建等内陆省区的流行毒株、传播来源以及扩散大流行的风险，为我国LSD的科学防控提供了依据（由于保密规定，具体内容和详细结果略。参见中国农业科学院兰州兽医研究所关于赴福建省龙岩市开展疑似牛结节性皮肤病调查情况与建议的报告（农科兰兽2020-132号））。

**6. 综述报告**

（1）成功分离鉴定了新疆、福建LSD的流行毒株，完成了全基因组测序分析，测定了这些毒株的TCID50以及对靶动物的毒力、致病特性，为防控技术研究奠定了坚实的基础。

（2）基于高分辨率熔解曲线法（HRM），建立了对山羊痘病毒属病毒GTPV、SPPV、LSDV的实时定量PCR检测方法。本方法特异性强、敏感度高、方法简便、检测成本低廉，可应用于牛羊临床自然感染的鉴别诊断与监测。

（3）通过山羊痘病毒属病毒的重组表达蛋白抗原的筛选，以及对对竞争ELISA反应条件的优化，确定了抗原浓度、封闭液种类、待检血清的浓度、竞争抗体的浓度等和所有的反应条件和时间。建立的竞争ELISA方法特异性强、敏感性高，适用于基层的疫病诊断、流行病学调查与溯源工作。

（4）应用建立的诊断与防控技术，已在全国范围内开展了LSD疫情监测、流行病学调查以及疫情处置工作，基本搞清了我国LSD的主要流行毒株、来源及其危害性，阐明了福建等内陆省区的流行毒株、传播来源以及扩散大流行的风险，科学指导紧急免疫预防接种，对接了LSD应急防控的国家重大需求。

# （5）本标准制定单位已具备从事LSDV病原学、免疫学和防控技术研究的硬件、软件以及专业人员的技术要求，是国家批准确定的从事LSD疫情监测、防控与净化研究以及菌毒种分离、保藏和使用的机构，现正在申报国家LSD参考/专业实验室或诊断检查中心。

# 四、采用国际标准和国外先进标准的程度，以及与国际、国内同类标准水平的对比情况，或与测试的国外样品有关数据对比情况

该标准主要采纳和转化了OIE《Terrestrial Animal Health Code》（2019）Chapter 11.9 Infection with lumpy skin disease virus中的相关内容，还吸纳了近年来国际上和我国在牛结节性皮肤病防控技术方面的最新研究成果，既与国际接轨，又保持了科学性和先进性，促进了该标准的完善和发展。主要对比如下：

该标准与OIE《Terrestrial Animal Health Code》（2019）的内容相比，该标准较全面系统地规定了牛结节病控制净化技术要求、生物安全管理要求、疫病监测检测、控制净化标准和综合判定等主要技术内容，其中生物安全管理要求是新增的内容，而OIE动物卫生法典重点规定了控制、净化和无疫国家或地区的标准，并对动物及其相关产品进口做了详细的规定，其他内容在法典的相关通则中进行了总体规定。另外，在控制净化技术要求中增加了一些最新的研究成果，使标准更具有针对性和科学性。在控制净化无疫标准规定中，采取了不低于OIE标准的原则进行规定，凸显出我国净化根除该病的决心和科学而谨慎的积极态度。

# 五、与现行的法律、法规和强制性国家标准的关系

主要说明标准与相应法律法规和强制性标准之间的衔接、协调情况。列出与标标准密切相关的法律法规、强制性标准的名称和编号。

# 该标准是新修订的《中华人民共和国动物防疫法》（中华人民共和国主席令[2021]第六十九号）发布实施后，为响应和贯彻落实该法，结合我国“十四五规划”以及2035年中长期发展愿景，针对我国动物重大疫病特别是外来新发病防控的严峻形势，提出了牛结节病防控与净化技术标准的制定工作，以尽快控制和净化这一外来新发病，保障养牛业的健康发展、食品安全和社会稳定。另外，2020年农业农村部发布了《牛结节性皮肤病防治技术规范》（农牧发[2020]30号），该规范重点规定了该病的防治，对其净化和根除无具体规定和要求，该标准是对该规范的补充完善，对该病的净化和根除以及获得无LSD国家意义重大。

因此，该标准与现行的法律、法规和强制性国家标准间是互补和完善的关系，无冲突。

# 六、标准性质（强制性，推荐性）的建议，特别是对建议批为强制性标准的理由应充分说明

# 严格按照立项下达的性质编写。无需增加解释文字。建议将本修订标准批准为推荐性标准。

# 该标准的性质建议为推荐性的标准。